

2009 年度 修士論文要旨

シロイヌナズナにおける COP9 シグナロソームと SUMO 化修飾経路とのクロストークについて

関西学院大学大学院理工学研究科
生命科学専攻 田中研究室 寺本 喬

SUMO(Small ubiquitin related modifier)とは、その名の通りユビキチンと構造、修飾反応経路が類似した翻訳後修飾因子である。しかしながら、その機能はユビキチンとは大きく異なり、タンパク質の活性や細胞内局在の調節、タンパク質の安定化など、さまざまな機能を持っていることが知られている。しかしながら、SUMO におけるこのような働きはこれまでヒトや酵母の分野では研究が盛んであったが、それに比べて植物の分野ではそれらほど進んではない。そこで、当研究室では先行研究において、シロイヌナズナを生物材料として、植物の SUMO 化標的タンパク質の単離を Yeast two-hybrid screening を用いて行った。その結果、SUMO3 に結合する因子として、COP9 シグナロソームのサブユニットの一つである CSN5a が単離された。そこで、筆者は卒業研究時に、CSN5a が本当に SUMO に結合するかどうか、大腸菌を用いた免疫沈降実験を行い、SUMO と CSN5 との相互作用を確認した。さらに、SUMO は通常ユビキチンと同様、E1, E2 などの修飾酵素を介して、SUMO の C 末端に存在する GG motif を介して標的タンパク質の K 残基と共有結合しているが、SUMO3 と CSN5 との場合はこのような結合様式とは異なり、標的タンパク質の SIM(SUMO interacting motif)と呼ばれる疎水性残基の集中した領域を介した非共有結合をしていることが確認できた。そこで、これらの結果を踏まえ、筆者は今回、植物体内での SUMO3 と CSN5 との結合を検出することを目的とし、GST pull-down 法、BiFC 法などを用いて行った。また、先行研究によって、SUMO3 が過剰発現する植物体ではオーキシン応答の抑制が見られた。このことと、CSN 複合体がユビキチン E3 リガーゼである SCF 複合体の活性を調節することでオーキシン応答を調節しているという知見から、SUMO3 は CSN5 を介してオーキシン応答を制御しているのではないかとこの可能性が考えられた。そこで筆者は、SUMO3 が過剰発現することにより CSN 複合体に何らかの影響を与えているのではないかと考え、ゲル濾過クロマトグラフィーを用いて SUMO3 過剰発現による CSN 複合体形成への影響を調べた。また、SCF 複合体のサブユニットである Cullin は、SUMO と同様のユビキチン様タンパク質である NEDD8 によって修飾されることが分かっている。そこで、SUMO3 はこの NEDD8 と競合することによって Cullin の活性、SCF 複合体の活性を調節しているのではないかと考え、当研究室で開発された、SUMO 化修飾を評価するための大腸菌を宿主とした *in vivo* SUMO 化再構成系を用いて、Cullin の各 AtSUMO 分子による修飾能を検証した。